

for IDS

1/1 PLUSPAT - (C) QUESTEL-ORBIT image

PN - JP2001235468 A 20010831 [JP2001235468]

TI - (A) BIOCHIP

PA - (A) YOKOGAWA ELECTRIC CORP

PA0 - (A) YOKOGAWA ELECTRIC CORP

IN - (A) TANAAMI TAKEO

AP - JP2000044384 20000222 [***2000JP-0044384***]

PR - JP2000044384 20000222 [2000JP-0044384]

STG - (A) Doc. Laid open to publ. Inspec.

AB - PROBLEM TO BE SOLVED: To realize a biochip which is highly stable and can reduce an examination cost.

- SOLUTION: In this biochip are arranged a collecting part for holding a blood sequentially collected from an opening of a blood-collecting tube, a pretreatment part for extracting an unknown sample from the blood, and a substrate having a known sample arranged in an array to a surface. The opening is made hermetic by a rubber plug.

- COPYRIGHT: (C)2001,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2001-235468
(P2001-235468A)

(43) 公開日 平成13年8月31日 (2001.8.31)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード* (参考)
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/53	M 2 G 0 4 2
21/78		21/78	2 G 0 5 4
31/22	1 2 1	31/22	1 2 1 P
33/566		33/566	

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願2000-44384 (P2000-44384)

(22) 出願日 平成12年2月22日 (2000.2.22)

(71) 出願人 000006507

横河電機株式会社

東京都武蔵野市中町2丁目9番32号

(72) 発明者 田名網 健雄

東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河
電機株式会社内

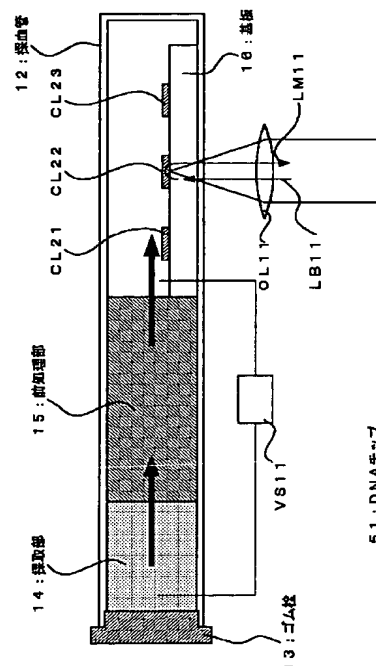
Fターム(参考) 2G042 AA01 BD19 CA10 CB03 FB05
2G054 AA07 CA22 EA03 GA04 GE09

(54) 【発明の名称】 バイオチップ

(57) 【要約】

【課題】 安全性が高く検査コストの低減が可能なバイオチップを実現する。

【解決手段】 バイオチップにおいて、採血管の開口部から順に採取された血液を保持する採取部、この血液から未知の試料を抽出する前処理部及び表面に既知の試料がアレイ状に配置された基板とを配置し、開口部をゴム栓により気密する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 バイオチップにおいて、

採血管の開口部から順に採取された血液を保持する採取部、この血液から未知の試料を抽出する前処理部及び表面に既知の試料がアレイ状に配置された基板とを配置し、

前記開口部をゴム栓により気密したことを特徴とするバイオチップ。

【請求項 2】 前記採取部に採取された血液を自然拡散によって前記前処理部に導入することを特徴とする請求項 1 記載のバイオチップ。

【請求項 3】 前記採取部の気圧よりも前記基板の配置位置の気圧を負圧にしておき、前記採取部に採取された血液を前記負圧による浸透によって前記前処理部に導入することを特徴とする請求項 1 記載のバイオチップ。

【請求項 4】 前記基板の配置位置を吸引してその気圧を減圧しておき、前記採取部に採取された血液を前記吸引による浸透によって前記前処理部に導入することを特徴とする請求項 1 記載のバイオチップ。

【請求項 5】 外部から電圧を印加して、前記採取部に採取された血液を電気泳動によって前記前処理部に導入することを特徴とする請求項 1 記載のバイオチップ。

【請求項 6】 前記前処理部が前記採取部に採取された血液から DNA を抽出し、前記試料が DNA であることを特徴とする請求項 1 記載のバイオチップ。

【請求項 7】 前記前処理部が前記採取部に採取された血液から RNA を抽出し、前記試料が RNA であることを特徴とする請求項 1 記載のバイオチップ。

【請求項 8】 前記前処理部が前記採取部に採取された血液から蛋白を抽出し、前記試料が蛋白であることを特徴とする請求項 1 記載のバイオチップ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、DNA、RNA 及び蛋白等の検査のためのバイオチップに関し、特に安全性が高く検査コストの低減が可能なバイオチップに関する。

【0002】

【従来の技術】 バイオチップ、例えば、DNA チップは数千から数万種類の既知の試料である既知の DNA の断片を基板上にアレイ状に配置したものである。このような DNA チップに未知の DNA の断片を流した場合に同じ種類の DNA 同士で結合する性質を利用して結合が生じた既知の DNA をバイオチップ読み出し装置を用いて調べることにより、未知の DNA の配列等を特定するものである。

【0003】 図 3 はこのようなバイオチップにおけるハ

イブリダイゼーションの一例を示す説明図である。図 3 中 “SB01” に示す基板上には図 3 中 “DN01”、“DN02”、“DN03”、“DN04”、“DN05” 及び “DN06” に示す 6 種類の DNA の断片がアレイ状に配置され DNA チップを構成している。

【0004】 一方、図 3 中 “UN01” は未知の DNA の断片であり、この DNA の断片は図 3 中 “LM01” に示すように蛍光標識が予め付加されている。このような未知の DNA の断片を前述の DNA チップにハイブリダイズさせることにより、配列が相補的な DNA 同士が結合する。

【0005】 例えば、図 3 中 “CB01” に示すように図 3 中 “UN01” の未知の DNA の断片は図 3 中 “DN01” に示す既知の DNA の断片と結合する。

【0006】 この状態で、バイオチップ読み出し装置を用いてこのようにハイブリダイズされた DNA チップに励起光を照射し、前記蛍光標識で発生する蛍光を検出することにより、既知の DNA の内でどの DNA と結合したかを識別することができる。

【0007】 例えば、図 3 中 “SI01” に示すような DNA チップを走査した結果のイメージにおいて、図 3 中 “CB01” が生じた部分のみが蛍光を生じるので図 3 中 “LD01” に示す部分のみから蛍光が検出されることになる。

【0008】 図 4 はこのような従来のバイオチップの構成を示す構成断面図及び平面図である。また、以降の説明に関してはバイオチップとして DNA チップを例示して説明する。図 4 において 1 は表面に既知の試料である既知の DNA の断片がアレイ状に配置された基板（以下、単に基板と呼ぶ。）、2 は基板 1 が内部に格納され当該内部に予め蛍光標識が付加された未知の DNA の断片が含まれる溶液が導入される容器、3 は容器 2 に設けられ前記溶液を導入する導入口である。

【0009】 また、容器 2 は励起光及びこの励起光により前記蛍光標識で発生する蛍光に対して透明な部材で構成されており、更に、図 4 中 “CL11”、“CL12”、“CL13”、“CL14”、“CL15” 及び “CL16” は試料である同一種類の既知の DNA の断片が複数個配置されているセルである。

【0010】 ここで、図 4 に示すバイオチップによる DNA 等の検査方法について図 5 及び図 6 を用いて説明する。図 5 は溶液の容器 2 への導入の一例を示す説明図、図 6 はバイオチップ読み出し装置を用いてハイブリダイズされた DNA チップを走査して未知の DNA の配列等を特定する一例を示す説明図である。

【0011】 先ず第 1 に、患者等の被験者から注射器等を用いて試料である血液を採取し、前処理を行った後の溶液を導入口 3 から容器 2 内に導入する。

【0012】 例えば、図 5 において 1～3 は図 4 と同一符号を付してあり、4 はスポイト等の溶液導入手段、5

は溶液導入手段に充填された前処理済みの溶液である。図5に示すように溶液導入手段4の先端部を導入口3に挿入して溶液導入手段4に充填されている溶液5を容器2の内部に注入する。

【0013】また、前述の前処理とは採取した血液からリンパ球を分離し、分離したリンパ球からDNAを抽出し、最後に抽出したDNAに蛍光標識を付加する一連の処理を示している。

【0014】第2に、容器2の内部に導入された溶液で基板1を浸し、基板1の各セルに配置された既知のDNAの断片との結合を行わせる。

【0015】最後に、図6に示すようなバイオチップ読み出し装置を用いてハイブリダイズされた基板1を走査して未知のDNAの配列等を特定する。

【0016】図6において1～3、"CL11"、"CL12"及び"CL13"は図4と同一符号を付してあり、6はレーザ光源等の光源、7はダイクロイックミラー、8は対物レンズ、9はフィルタ、10はレンズ、11は光検出素子である。また、6～11はバイオチップ読み出し装置50を構成している。

【0017】光源6の出力光はダイクロイックミラー7で反射され、対物レンズ8で集光されて照射光として基板1上のセル、例えば、図6中"CL12"に示すセルに集光される。

【0018】基板1上のセルで発生した蛍光は再び対物レンズ8で平行光になりダイクロイックミラー7に入射される。入射された蛍光はダイクロイックミラー7を透過し、ダイクロイックミラー7を透過した蛍光はフィルタ9を透過してレンズ10により光検出素子11に集光される。

【0019】また、集光位置は図示しない駆動手段により走査される。例えば、基板1上の他のセルである図6中"CL11"及び"CL13"に示すセルに対しても励起光が照射するように容器2自体若しくはバイオチップ読み出し装置50自体が走査される。

【0020】この結果、基板1上の蛍光発光したセルの位置を特定することにより、導入された未知のDNAの配列を特定することができる。

【0021】

【発明が解決しようとする課題】しかし、近年試料である血液等はHIV等のウィルスに汚染されていることが多く、安全性のために注射器等の医療器具は洗浄殺菌等による再利用は行わずに使い捨て式の医療器具を用いることが増加している。これに対して、図5に示すような溶液の導入方法では必ず溶液導入手段4等から容器2への溶液の移し替え作業が発生して、誤操作等により溶液に接触してHIV等に感染してしまう危険性があると言った問題点があった。

【0022】また、使い捨てにより廃棄すべき医療器具も注射器、前処理に用いた器具、溶液導入手段及びDN

Aチップ等と複数個になり、検査コストが高くなると言った問題点があった。従って本発明が解決しようとする課題は、安全性が高く検査コストの低減が可能なバイオチップを実現することにある。

05 【0023】

【課題を解決するための手段】このような課題を達成するために、本発明のうち請求項1記載の発明は、バイオチップにおいて、採血管の開口部から順に採取された血液を保持する採取部、この血液から未知の試料を抽出する前処理部及び表面に既知の試料がアレイ状に配置された基板とを配置し、前記開口部をゴム栓により気密したことにより、安全性が高く検査コストの低減が可能になる。

15 【0024】請求項2記載の発明は、請求項1記載の発明であるバイオチップにおいて、前記採取部に採取された血液を自然拡散によって前記前処理部に導入することにより、安全性が高く検査コストの低減が可能になる。

20 【0025】請求項3記載の発明は、請求項1記載の発明であるバイオチップにおいて、前記採取部の気圧よりも前記基板の配置位置の気圧を負圧にしておき、前記採取部に採取された血液を前記負圧による浸透によって前記前処理部に導入することにより、安全性が高く検査コストの低減が可能になる。

25 【0026】請求項4記載の発明は、請求項1記載の発明であるバイオチップにおいて、前記基板の配置位置を吸引してその気圧を減圧しておき、前記採取部に採取された血液を前記吸引による浸透によって前記前処理部に導入することにより、安全性が高く検査コストの低減が可能になる。

30 【0027】請求項5記載の発明は、請求項1記載の発明であるバイオチップにおいて、外部から電圧を印加して、前記採取部に採取された血液を電気泳動によって前記前処理部に導入することにより、安全性が高く検査コストの低減が可能になる。

35 【0028】請求項6記載の発明は、請求項1記載の発明であるバイオチップにおいて、前記前処理部が前記採取部に採取された血液からDNAを抽出し、前記試料がDNAであることにより、ハイブリダイゼーションにより相補的な配列を有する既知のDNAと未知のDNAが結合して未知のDNAの配列を特定することができる。

40 【0029】請求項7記載の発明は、請求項1記載の発明であるバイオチップにおいて、前記前処理部が前記採取部に採取された血液からRNAを抽出し、前記試料がRNAであることにより、ハイブリダイゼーションにより相補的な配列を有する既知のRNAと未知のRNAが結合して未知のRNAの配列を特定することができる。

45 【0030】請求項8記載の発明は、請求項1記載の発明であるバイオチップにおいて、前記前処理部が前記採取部に採取された血液から蛋白を抽出し、前記試料が蛋白であることにより、抗原抗体反応により既知の蛋白と

未知の蛋白が結合して未知の蛋白の配列を特定することができる。

【0031】

【発明の実施の形態】以下本発明を図面を用いて詳細に説明する。図1は本発明に係るバイオチップの一実施例を示す構成断面図である。図1において12は従来のスピッツ管の代わりに注射器に挿入されて採血を行い励起光やこの励起光によって蛍光標識で発生する蛍光等に対して透明な採血管、13は中央部が肉薄でこの肉薄部分に針が穿刺されるゴム栓、14は採取された血液が一旦保持される採取部、15は前述のような前処理が行われる前処理部、16は採血管12内に配置され表面に既知の試料である既知のDNAの断片がアレイ状に配置された基板（以下、単に基板と呼ぶ。）である。

【0032】また、12～16はDNAチップ（バイオチップ）51を構成しており、さらに、図1中“CL21”、“CL22”及び“CL23”は試料である同一種類の既知のDNAの断片が複数個配置されているセルである。

【0033】採血管12の最深部分には基板16が配置され、採血管12の中間部分には前処理部15が設けられる。また、採血管12の最浅部分の空間は血液を一旦保持する採取部14となる。さらに、採血管12の最深部分は真空等の採血部14の気圧より負圧な状態にして、採血管12の開口部にゴム栓13を設けて気密する。

【0034】ここで、図1に示す実施例の使用方法及び動作を図2を用いて説明する。図2は図1に示す実施例の使用法を示す説明図である。図2において13及び51は図1と同一符号を付してあり、17は採血用の注射器、18は注射器17に設けられた採血針である。

【0035】採血針18は注射器17の開口部とは反対側の先端に設けられ、図2中“ND11”及び“ND12”に示すように両端に穿刺可能な部分がある。注射器17の開口部からは従来のスピッツ管の代わりにDNAチップ51が挿入され、この時、DNAチップ51のゴム栓13の中央部分に図2中“ND12”に示す採血針18の一端が穿刺されて結合する。

【0036】この状態で、図2中“AM11”に示すような患者等の被験者の腕に図2中“ND11”に示す採血針18の他端が穿刺されると血液が採血針18を介してDNAチップ51の採血部14（図示せず。）に流入して採血される。

【0037】このように採血した後に被験者の腕から採血針を抜き取ると共に注射器17からDNAチップ51を抜き取る。この時、ゴム栓13の穿刺された部分はゴム栓13の弾性により閉塞されて採血管12の気密性は保持される。

【0038】このように採血部14に採取された血液は採血部14よりも負圧である採血管12の最深部分に浸

透するため、血液は前処理部15に導入される。前処理部15では前述のように血液からリンパ球を分離し、分離したリンパ球からDNAを抽出し、抽出したDNAに蛍光標識を付加する一連の処理が行われる。

05 【0039】前処理されたDNAは前処理部15よりも負圧である採血管12の最深部分に浸透するため、血液は基板16の配置部分に導入される。そして前述と同様に蛍光標識が付された未知のDNAの断片を既知のDNAにハイブリダイズさせることにより、配列が相補的なDNA同士が結合する。

10 【0040】すなわち、この状態で、前述のバイオチップ読み出し装置等を用いてこのようにハイブリダイズされた基板16に励起光を照射し、前記蛍光標識で発生する蛍光を検出することにより、既知のDNAの内でのDNAと結合したかを識別することができる。

15 【0041】例えば、図1中“LB11”に示すようなバイオチップ読み出し装置（図示せず。）の励起光を図1中“OL11”に示すような対物レンズで図1中“CL22”に示す基板16上のセルに集光して、当該セルで発生する図1中“LM11”に示すような蛍光を検出することにより、未知のDNAを検出することが可能になる。

20 【0042】そして、検査終了後には採血に用いた注射器17とDNAチップ51そのものを医療廃棄物として廃棄処理すれば良く、従来のように前処理に用いた器具や溶液導入手段等のが不要になるので検査コストが低減されることになる。

25 【0043】また、検査者が採血した血液をDNAチップに移し替える作業がなくなり、誤操作等により血液に接触してHIV等に感染してしまう危険性がなく安全性が確保される。

30 【0044】この結果、採血管12内に採取部14、前処理部15及び表面に既知の試料がアレイ状に配置された基板16を設けることにより、安全性が高く検査コストの低減が可能になる。

35 【0045】なお、図1等の説明に際してはバイオチップとしてDNAチップを例示しているが勿論DNAチップに限定されるものではなく、RNA、蛋白、糖鎖等を基板上にアレイ状に配置したものであっても構わない。

40 【0046】この場合、RNAはDNAと同じくハイブリダイゼーションにより、また蛋白は抗原抗体反応により既知の試料と未知の試料が結合することになる。

45 【0047】また、採取部14から前処理部15等への血液等の導入に関しては基板16配置部分を採取部14よりも負圧にしてその浸透により導入していたが勿論これに限定される訳ではない。

50 【0048】すなわち、前処理部15の両端に電極を設け外部から電圧を印加して電気泳動を用いて血液等を導入しても構わない。例えば、バイオチップがDNAチップの場合にはDNAはマイナスに帯電しているので、図

1 中”VS11”に示す電圧源の極性として基板16側を”正電圧”、採取部14側を”負電圧”とすることにより、前処理部15から基板16側にDNAが導入されることになる。

【0049】また、単に浸透圧を用いた自然拡散を用いて血液等を導入しても構わない。さらに、採血管12の最深部分に吸引口を設けて外部から吸引を行って浸透により血液等を導入しても構わない。

【0050】また、図1に示す実施例ではDNA等の検出に関しては蛍光標識を用いた蛍光検出を用いているが、ハイブリダイゼーションに対応した電流値の変化や質量分析であっても構わない。

【0051】例えば、電流変化による方法では、ハイブリダイゼーション後にインターカレンターという分子を2重鎖に滑り込ませる。この場合にはハイブリダイゼーションが生じた電極にだけ電流が流れるのでこの電流を検出する。また、質量分析では、イオン化したDNAを真空中で飛行させ、電極に到達する時間差により分子量を検出する。

【0052】

【発明の効果】以上説明したことから明かなように、本発明によれば次のような効果がある。請求項1乃至請求項5の発明によれば、採血管内に採取部、前処理部及び表面に既知の試料がアレイ状に配置された基板を設けることにより、検査者が採血した血液をバイオチップに移し替える作業がなくなり、誤操作等により血液に接触してHIV等に感染してしまう危険性がなく安全性が確保される。

【0053】また、バイオチップ検査終了後には採血に用いた注射器とバイオチップそのものを医療廃棄物として廃棄処理すれば良く、従来のように前処理に用いた器具や溶液導入手段等のが不要になるので検査コストが低減されることになる。

【0054】また、請求項6の発明によれば、前処理部が採取部に採取された血液からDNAを抽出し、基板上にアレイ状に配置された試料がDNAであることにより、ハイブリダイゼーションにより相補的な配列を有する既知の試料と未知の試料が結合して未知の試料の配列を特定することができる。

【0055】また、請求項7の発明によれば、前処理部が採取部に採取された血液からRNAを抽出し、基板上にアレイ状に配置された試料がRNAであることによ

り、ハイブリダイゼーションにより相補的な配列を有する既知の試料と未知の試料が結合して未知の試料の配列を特定することができる。

【0056】また、請求項8の発明によれば、前処理部が採取部に採取された血液から蛋白を抽出し、基板上にアレイ状に配置された試料が蛋白であることにより、抗原抗体反応により既知の試料と未知の試料が結合して未知の試料の配列を特定することができる。

【図面の簡単な説明】

10 【図1】本発明に係るバイオチップの一実施例を示す構成断面図である。

【図2】実施例の使用法を示す説明図である。

【図3】バイオチップにおけるハイブリダイゼーションの一例を示す説明図である。

15 【図4】従来のバイオチップの構成を示す構成断面図及び平面図である。

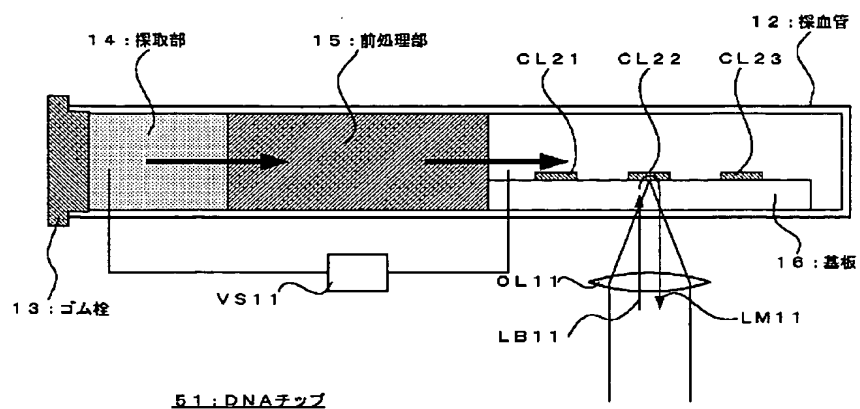
【図5】溶液の容器への導入の一例を示す説明図である。

20 【図6】バイオチップ読み出し装置を用いてハイブリダイズされたDNAチップを走査して未知のDNAの配列等を特定する一例を示す説明図である。

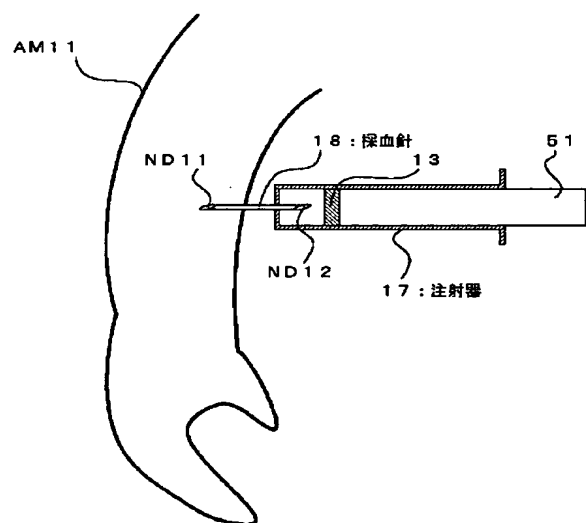
【符号の説明】

- 1, 16 基板
- 2 容器
- 25 3 導入口
- 4 溶液導入手段
- 5 溶液
- 6 光源
- 7 ダイクロイックミラー
- 30 8 対物レンズ
- 9 フィルタ
- 10 レンズ
- 11 光検出素子
- 12 採血管
- 35 13 ゴム栓
- 14 採取部
- 15 前処理部
- 17 注射器
- 18 採血針
- 40 50 バイオチップ読み出し装置
- 51 DNAチップ

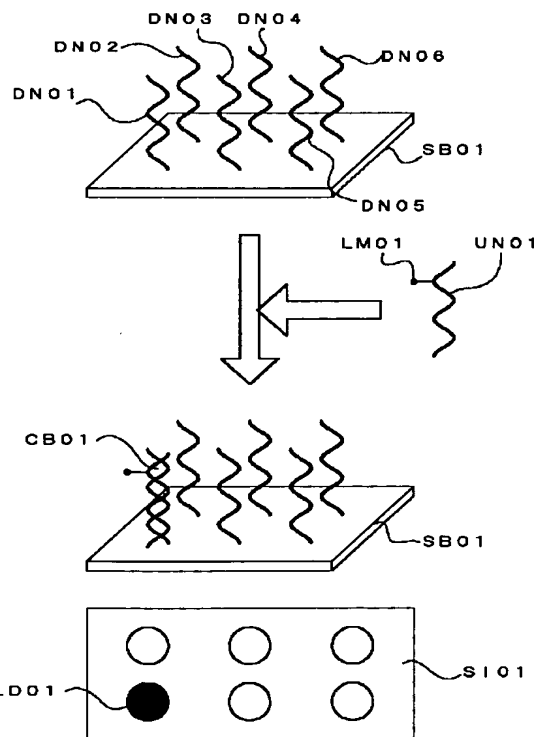
【図1】



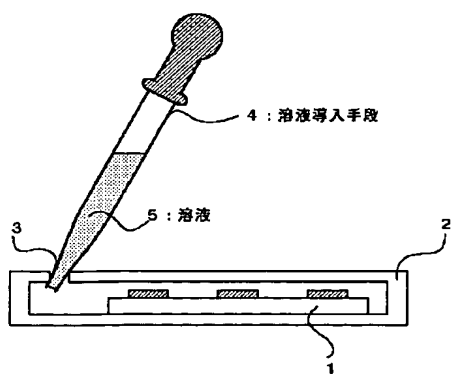
【図2】



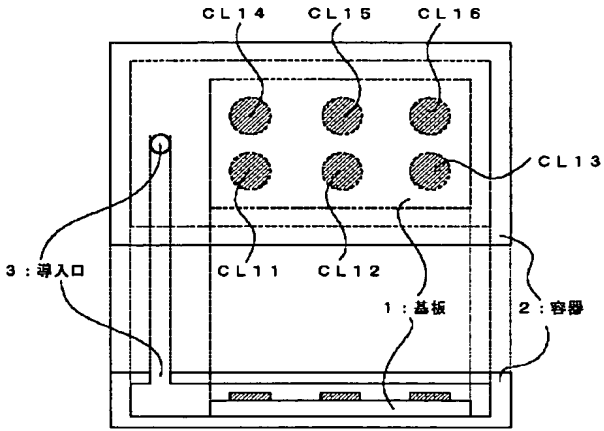
【図3】



【図5】



【図4】



【図6】

